

**Histaminfreisetzung
aus basophilen Granulozyten
und adenoidalen Mastzellen –
Beeinflußung
durch 5 *a* Dihydrotestosteron**

Joana Grevers-Colorian



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Dermatologischen Klinik der Universität München

Vorstand Prof. Dr. med. Dr. h. c. O. Braun-Falco

Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten

und adenoidalen Mastzellen -

Beeinflußung durch 5 α Dihydrotestosteron

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Joana Grevers-Colorian

aus

München

1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. J. Ring
Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr.h.c. O. Braun-Falco
Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter Dr. B. Przybilla
Dekan: Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung: 5.02.1987

Inhalt	Seite
1. Einführung	1
2. Hauptteil	2
2.1. Einführung in die Thematik	3
2.2. Darstellung der Thematik	4
2.3. Diskussion der Thematik	5
2.4. Zusammenfassung der Thematik	6
2.5. Schlussfolgerungen	7
2.6. Literaturverzeichnis	8
2.7. Anhang	9
2.8. Bibliographie	10
2.9. Literaturverzeichnis	11
2.10. Anhang	12
2.11. Bibliographie	13
2.12. Anhang	14
2.13. Bibliographie	15
2.14. Anhang	16
2.15. Bibliographie	17
2.16. Anhang	18
2.17. Bibliographie	19
2.18. Anhang	20
2.19. Bibliographie	21
2.20. Anhang	22
2.21. Bibliographie	23
2.22. Anhang	24
2.23. Bibliographie	25
2.24. Anhang	26
2.25. Bibliographie	27
2.26. Anhang	28
2.27. Bibliographie	29
2.28. Anhang	30
2.29. Bibliographie	31
2.30. Anhang	32
2.31. Bibliographie	33
2.32. Anhang	34
2.33. Bibliographie	35
2.34. Anhang	36
2.35. Bibliographie	37
2.36. Anhang	38
2.37. Bibliographie	39
2.38. Anhang	40
2.39. Bibliographie	41
2.40. Anhang	42
2.41. Bibliographie	43
2.42. Anhang	44
2.43. Bibliographie	45
2.44. Anhang	46
2.45. Bibliographie	47
2.46. Anhang	48
2.47. Bibliographie	49
2.48. Anhang	50
2.49. Bibliographie	51
2.50. Anhang	52
2.51. Bibliographie	53
2.52. Anhang	54
2.53. Bibliographie	55
2.54. Anhang	56
2.55. Bibliographie	57
2.56. Anhang	58
2.57. Bibliographie	59
2.58. Anhang	60
2.59. Bibliographie	61
2.60. Anhang	62
2.61. Bibliographie	63
2.62. Anhang	64
2.63. Bibliographie	65
2.64. Anhang	66
2.65. Bibliographie	67
2.66. Anhang	68
2.67. Bibliographie	69
2.68. Anhang	70
2.69. Bibliographie	71
2.70. Anhang	72
2.71. Bibliographie	73
2.72. Anhang	74
2.73. Bibliographie	75
2.74. Anhang	76
2.75. Bibliographie	77
2.76. Anhang	78
2.77. Bibliographie	79
2.78. Anhang	80
2.79. Bibliographie	81
2.80. Anhang	82
2.81. Bibliographie	83
2.82. Anhang	84
2.83. Bibliographie	85
2.84. Anhang	86
2.85. Bibliographie	87
2.86. Anhang	88
2.87. Bibliographie	89
2.88. Anhang	90
2.89. Bibliographie	91
2.90. Anhang	92
2.91. Bibliographie	93
2.92. Anhang	94
2.93. Bibliographie	95
2.94. Anhang	96
2.95. Bibliographie	97
2.96. Anhang	98
2.97. Bibliographie	99
2.98. Anhang	100
2.99. Bibliographie	101
2.100. Anhang	102

Inhalt	Seite	
A	Einleitung	4
B	Fragestellung	6
C	Patienten, Material und Methoden	7
1.	Patienten	7
1.1.	Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten	7
1.2.	Histaminfreisetzung aus adenoidalen Mastzellen	9
2.	Isolierung der Histamin-freisetzenden Zellen	10
2.1.	Isolierung der Leukozyten	10
2.2.	Isolierung der Mastzellen	11
2.2.1.	Vorversuche	11
2.2.2.	Methode zur Isolierung adenoidaler Mastzellen	11
3.	Stimulation bzw. Hemmung der Histamin-freisetzung aus basophilen Granulozyten und adenoidalen Mastzellen	13
3.1.	Vorversuche zur Bestimmung der Vorinkubationszeit mit dem Hormon 5 α Dihydrotestosteron	13
3.2.	Aufbau der Stimulationsversuche	13
3.3.	Kinetikversuche mit 5 α Dihydrotestosteron	14
3.3.1.	Löslichkeit von 5 α Dihydrotestosteron	15
3.3.1.1.	Hemmung der Anti-IgE-induzierten Histaminfreisetzung der basophilen Granulozyten durch C ₂ H ₅ OH	18
3.3.2.	Die Verwendung von 5 α Dihydrotestosteron als Suspension in TCM-Puffer	18
3.3.3.	Die Versuchsanordnung	21
4.	Histaminfreisetzung	25

5.	Materialien für Kinetikversuche	26
5.1.	TCM-Puffer	26
5.2.	Hanks Lösung	26
5.3.	Anti-IgE-Serum	26
5.4.	Ca Ionophor	26
6.	Statistische Methoden	27
D	Ergebnisse	28
1.	Zur Methode der Gewinnung adenoidaler Mastzellen	28
2.	Äthanol und die IgE-Messung	31
3.	Einfluß von 5 α Dihydrotestosteron auf den Histaminfreisetzungstest der adenoidalen Mastzellen	32
3.1.	Stimulation mit Anti-IgE	32
3.2.	Stimulation mit Ca Ionophor	32
3.3.	Vergleich der Stimulationsergebnisse mit Anti-IgE bzw. Ca Ionophor	34
4.	Einfluß von 5 α Dihydrotestosteron auf die Histaminfreisetzung basophiler Granulozyten	35
4.1.	Stimulation mit Anti-IgE	35
4.2.	Stimulation mit Ca Ionophor	35
4.3.	Vergleich der Stimulation basophiler Granulozyten mit Ca Ionophor bzw. Anti-IgE	37
E	Diskussion	38
1.	Mastzellgewinnung aus menschlichen Adenoiden und ihre Stimulation mittels Anti-IgE bzw. Ca Ionophor	40
2.	Zur Äthanolwirkung auf die Histaminfreisetzung basophiler Granulozyten	43
3.	Unterschiede der Reagibilität von Mastzellen und basophilen Granulozyten auf Anti-IgE bzw. Ca Ionophor	44

4.	Einfluß von 5 α Dihydrotestosteron auf die Anti-IgE bzw. Ca Ionophor induzierte Histaminfreisetzung	45
F	Zusammenfassung	52
G	Literaturverzeichnis	54
	Danksagung	
	Lebenslauf	

A Einleitung

Der Begriff "Allergie" (ἄλλος ἔργον) wurde vom Wiener Pädriater Clemens von Pirquet im Jahre 1906 geprägt (72). Heutzutage wird die Allergie (nach Ring) als eine "spezifische Änderung der Immunitätslage im Sinne einer krankmachenden Überempfindlichkeit" definiert (80).

Die "Atopie" wurde 1923 von Coca & Cooke als "angeborene Neigung zur Sensibilisierung" in die medizinische Terminologie eingeführt (17). Sie steht im heutigen wissenschaftlichen Verständnis als Überbegriff für die Trias atopisches Ekzem, allergische Rhinitis und allergisches Asthma bronchiale (9, 80). Die Pathogenese des atopischen Ekzems ist noch immer nicht völlig geklärt. Bekannt sind bei dieser Hauterkrankung Seborrhoe, erhöhtes IgE, verminderte zelluläre Immunität, psycho-vegetative Einflüsse und möglicherweise eine veränderte Freisetzungsfähigkeit mediatorsezierender Zellen, die vasoaktive Substanzen, wie z.B. Histamin, beinhalten (6, 9, 10, 13, 15, 28, 30, 42, 45, 49, 59, 68, 73, 76, 77, 101, 103).

Histamin wird aus den Granula der Mastzellen bzw. basophilen Granulozyten freigesetzt. In der Vergangenheit waren einige Autoren der Meinung, daß Mastzellen und basophile Granulozyten möglicherweise identisch sind (18, 67). Dies ist aber nicht der Fall (52, 81).

Bisher fungierten in unserer Klinik die basophilen Granulozyten des Blutes als "Histamindonore" für den Histaminfreisetzungstest nach Siraganian (92, 93). Da auch die Mastzellen bei der Histaminfreisetzung eine Rolle spielen, erschien es sinnvoll, auch diese als Substrat für den Histaminfreisetzungsprozeß einzusetzen.

Die Histaminfreisetzung kann durch eine Reihe von Substanzen ausgelöst werden, deren Wirkungsmechanismus zum Teil noch nicht bekannt ist. 1966 identifizierte Ishizaka das "Immunglobulin der Überempfindlichkeit" IgE, das eine bedeutende Rolle in der Pathophysiologie allergischer Reaktionen spielt.

Auf den Oberflächen sowohl der basophilen Granulozyten, als auch der Mastzellen befinden sich die IgE-Moleküle, deren Dichte pro Zelle zwischen 4.000 und 400.000 liegt. Das Fc-Ende des Immunglobulins ist mit dem Membranrezeptor gekoppelt. Wenn ein spezifisches Antigen oder Anti-IgE vorhanden ist, werden zwei benachbarte IgE-Moleküle durch eine Brückenbildung verbunden und verursachen damit eine Enzymaktivierung, die Calcium- und energieabhängig verläuft und über Kontraktion von Microtubuli eine Histaminfreisetzung in Gang setzt (1, 5, 14, 35, 36, 37, 38, 39, 41, 50, 53, 55, 62, 66, 79, 88).

Eine nicht IgE-abhängige Histaminliberation kann durch verschiedene Substanzen verursacht sein: Ca Ionophor, Pepstatin A, f-met Peptide, Deuterium Oxide etc. (3, 26, 40, 56, 57, 63, 64, 69, 94).

Ca Ionophor wirkt durch direkte Bindung und Transport von Ca^{2+} in die Zelle. Intrazellulär aktiviert Ca^{2+} Phospholipase Enzyme zur Produktion von Lysophospholipiden und zur Freisetzung von Fettsäuren, wie z.B. Arachidonsäure. Diese Produkte wiederum spielen eine Rolle bei der Histaminfreisetzung (22, 52, 56, 100).

B Fragestellung

Der Einfluß von 5- α Dihydrotestosteron auf die Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten und Mastzellen

Die Tatsache, daß in vielen Fällen während und nach der Pubertät eine Besserung oder Abheilung der Hauterscheinungen des atopischen Ekzems eintritt, sowie die Geschlechtsverteilung bei dieser Erkrankung (weiblich : männlich = 2 : 1), war Anlaß, den Einfluß des männlichen Geschlechtshormons (5- α Dihydrotestosteron) auf die Histamin-sezernierenden Zellen zu untersuchen (6, 51, 73, 74).

Ziel der vorliegenden Arbeit war es zu untersuchen, ob und in welcher Weise 5 α Dihydrotestosteron auf die Histaminfreisetzung basophiler Granulozyten und adenoidaler Mastzellen wirkt. Soweit es die adenoidalen Mastzellen betrifft, mußte zuerst eine Methode zu deren Isolierung entwickelt werden.

Die Beeinflußbarkeit der Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten und Mastzellen durch das männliche Geschlechtshormon 5 α Dihydrotestosteron könnte aufschlußreich sein für mögliche Zusammenhänge zwischen Atopie und Geschlecht bzw. Atopie und Alter.

C Patienten, Material und Methoden

1. Patienten

1.1. Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten

Die Untersuchungen wurden an 16 Probanden (9 Männer, 7 Frauen) darunter 8 Atopiker und 8 Kontrollpersonen, durchgeführt. Das Alter der Probanden lag zwischen 16 und 64 Jahren. Die Atopiker zeigten im Prick-Hauttest starke Reaktionen auf Pollen (Gräser, Kräuter, Bäume), Tierhaare, Hausstaub oder Hausstaubmilbe. Einige hatten eine ausgeprägte Anamnese von Rhinitis allergica, Asthma bronchiale oder atopischem Ekzem, und alle zeigten einen erhöhten IgE-Spiegel (> 100 kU/l im PRIST).

Alle Patienten hatten mindestens ein halbes Jahr lang keine systemischen Corticoide erhalten, außerdem während der letzten drei Tage vor der Blutentnahme keinerlei systemische Medikation.

Im Folgenden sind die wichtigsten anamnestischen Daten der Atopiker tabellarisch zusammengefaßt.

Patient Nr.	Name	Alter (Jahre)	Geschlecht	IgE-Spiegel i. Serum (kU/l)	Prick-Test positiv ($\geq ++$)	RAST	Anamnese
1	G.S.	32	w	2040	Gräser Bäume	Gräser: 3	atopisches Ekzem
2	S.S.	49	m	880	Gräser Bäume	Gräser: 4	atopisches Ekzem
3	S.M.	39	w	560	Gräser Pollen	Bienen- gift: 4	Bienengiftallergie A. b.
4	G.P.	27	w	720	Tierhaare	Tierhaare: 3 3	A. b., R. a.
5	F.H.	23	m	240	Pollen Hausstaub- milbe	Hausstaub- milbe: 2	A. b., R. a.
6	M.H.	38	m	1280	Tierhaare Pollen	Tierhaare: 3 3	R. a., A. b., atopisches Ekzem
7	K.A.	27	w	1680	Hausstaub Roggen Gräser	Milbe: 3	atopisches Ekzem A. b.
8	N.G.	31	m	540	Bäume Gräser	Gräser: 4	R. a., A. b. C.a.

Tabelle 1

Abkürzungen: C.a. = Conjunctivitis allergica;
R.a. = Rhinitis allergica;
A.b. = Asthma bronchiale
m = männlich
w = weiblich

1.2. Histaminfreisetzung aus adenoidalen Mastzellen

Die Adenoide wurden von 15 Patienten im Alter von 3 - 9 Jahren (6 ♂ , 9 ♀) gewonnen, die wegen hyperplastischer Rachenmandeln adenotomiert wurden. Aus der Anamnese der Kinder ließen sich weder Rhinitis allergica noch Asthma bronchiale oder atopisches Ekzem eruieren. Drei Tage präoperativ wurden keine Medikamente verabreicht.

Die Operation (Adenotomie = Entfernung der Rachenmandeln) wurde in Intubationsnarkose unter Verwendung von Halothan und Lachgas durchgeführt. Prä- und intraoperativ wurden die Relaxantien Alloferin^R (0,3-0,5 mg/kg KG) und Lystenon^R (1 mg/kg KG), sowie das Neuroleptanalgetikum Thalamonal (0,05 ml/kg KG) intravenös injiziert.

2. Isolierung der Histamin-freisetzenden Zellen

2.1. Isolierung der Leukozyten

Aus der Cubitalvene wurden 20 ml Vollblut in eine heparinisierte Spritze entnommen. Nach Zugabe von 5 ml Dextran 6 % wurde die Spritze 60 Minuten lang aufrecht stehen gelassen. Während dieser Zeit sedimentierten die Erythrozyten. Der Überstand setzte sich aus Plasma und Leukozyten, sowie noch einigen Erythrozyten und Thrombozyten zusammen und wurde über ein "Butterfly"-Schlauchsystem in Kunststoffröhrchen eingebracht.

Danach erfolgte die 10minütige Zentrifugation (400 g bei 4° C). Anschließend wurde der Überstand dekantiert. Zur Lysierung der Erythrozyten wurde ein hypotoner Schock durchgeführt (1000µl Aqua dest. und 1000µl 1,8 NaCl) und die Zellen später mit Tris-Calcium-Magnesium (TCM) Puffer bei einem pH von 7,4 aufgeschwemmt. Es folgte dann noch zweimal eine 10minütige Zentrifugation (400 g bei 4° C), sowie Aufschwemmung mit TCM-Puffer, wobei die letzte Aufschwemmung bis zu dem benötigten Volumen von 20 ml durchgeführt wurde. Abschließend wurde die Zellzahl in der Neubauer Zählkammer bestimmt und im Endvolumen auf $10^6/\text{ml}$ justiert.

2.2. Isolierung der Mastzellen

2.2.1. Vorversuche

Als erstes stellte sich die Frage, ob das Gewebe nur durch manuelles Schneiden - also ohne ein Enzym - in so kleine Stücke geteilt werden kann, daß es gelingt, nach mehrmaligem Waschen und Zentrifugieren genügend Zellen zu isolieren. In der Neubauer Kammer ließen sich jedoch nur ca. 2 - 6 Mastzellen pro μl zählen. Dies hätte eine viel zu geringe Zelldichte für das benötigte Endvolumen bedeutet.

Die Collagenase Typ I Worthington, eine unreine Form, die nicht allein auf Collagenbindungen wirkt, wurde eingesetzt. Die Konzentrationen von 0,1 und 0,5 % zeigten erst nach ca. 30- bzw. 20minütiger Inkubation eine Wirkung. Zu diesem Zeitpunkt war bereits die Mehrzahl der Zellmembranen zerstört. Kürzere Inkubationszeiten beeinflussten die interzellulären Bindungen nicht ausreichend und ließen Zellklumpen zurück. Den effektivsten und für die Mastzellmembranen schonendsten Effekt zeigte die 1%ige Collagenase mit einer Inkubationszeit von 5 Minuten.

2.2.2. Methode zur Isolierung adenoidaler Mastzellen

Es stellte sich die Frage, ob zur Konservierung des adenoiden Gewebes ein calciumfreies oder ein calciumhaltiges Medium verwandt werden sollte. Die Ergebnisse einer anderen Arbeitsgruppe ließen den Einsatz eines calciumhaltigen Puffers am sinnvollsten erscheinen (19).

Folgendes Verfahren kam schließlich zur Anwendung: Nach Entfernung der Adenoide wurde das Gewebe zunächst in kalter Hanks Lösung (4°C) konserviert und nach 90-120 Minuten mit einem Skalpell in ca. 1mm^3 große Gewebestücke zerteilt. Dann stellten wir eine Gewebssuspension mit Hanks Lösung und 1%iger Collagenase her, die im Wasserbad bei 37°C für ca. 5 Minuten inkubiert wurde, wobei das Gefäß zwischenzeitlich mehrfach geschüttelt wurde. Nach der Zentrifugation (5 min bei 50 g und 4°C) wurde der Überstand abgesaugt und die Zellen in Hanks Lösung suspendiert. Die letzten beiden Arbeitsgänge wurden noch zweimal wiederholt, bevor die mechanische Dispersion mit einer Plastikspritze erfolgte. Anschließend wurde die Zellsuspension durch einen Plastikfilter (Schweizer Beuteltuchfabrik) mit der Porengröße $300\text{ }\mu\text{m}$ filtriert. Nach 5minütiger Inkubation eines geringen Suspensionsvolumens mit 0,1 % Toluidinblau (bei einem pH von 3,5 bis 4,2 und 37°C) wurden die Mastzellen, die durch die Metachromasie ihrer Granula klar hervortreten, in der Neubauer Zählkammer bestimmt. Abschließend wurde die Zellsuspension auf das entsprechende Endvolumen (Zelldichte von ca. $10^6/\text{ml}$) mit TCM-Puffer aufgeschwemmt.

3. Stimulation bzw. Hemmung der Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten und adenoidalen Mastzellen

3.1. Vorversuche zur Bestimmung der Vorinkubationszeit mit dem Hormon 5α Dihydrotestosteron

Die Basophilen- oder Mastzellsuspensionen wurden bei 37° C im Wasserbad für 10, 30 und 60 Minuten mit 5α Dihydrotestosteron vorinkubiert. Da sich bei längeren Vorinkubationszeiten keine Unterschiede der Hormonwirkung feststellen ließen, wurde die 10minütige Vorinkubationszeit als ausreichend angesehen.

3.2. Aufbau der Stimulationsversuche

Die Freisetzungsversuche erfolgten in Kunststoffröhrchen im Wasserbad bei 37° C. Je 500 μ l der Zellsuspension wurden 10 Minuten lang mit Verdünnungen des Geschlechtshormons vorinkubiert und nach Zugabe von 50 μ l Anti-IgE bzw. Ca Ionophor weitere 30 Minuten stimuliert.

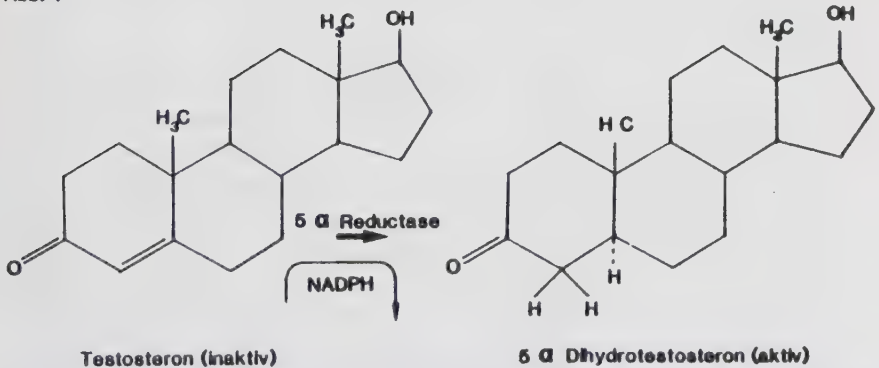
Zur Ermittlung der Histaminfreisetzung durch Anti-IgE bzw. Ca Ionophor allein wurde die Zellsuspension mit 50 μ l TCM-Puffer vorinkubiert und anschließend mit 50 μ l Anti-IgE bzw. Ca Ionophor 30 Minuten lang inkubiert. Die Leerwertbestimmung erfolgte durch Inkubation der Zellsuspension mit 100 μ l TCM-Puffer. Der Gesamtgehalt an Histamin konnte durch Lysieren der Zellen mit 100 μ l 70%iger Perchlorsäure ermittelt werden.

Nach der Inkubation im Wasserbad wurden alle Röhrchen zentrifugiert (10 min, 400 g, 4° C), der Überstand mit 0,5 ml Perchlorsäure 2 % versetzt und bis zur Histaminbestimmung im Kühlschrank aufbewahrt.

3.3. Kinetik-Versuche mit 5α Dihydrotestosteron (5α -Androstan - 17 β -One)

Zur Durchführung der Versuche wurde 5α Dihydrotestosteron, die physiologisch aktive Form des Testosterons, verwendet (23, 97).

Abb. 1



Testosteron wird an der Zielzelle durch Reduktion der Δ^4 -Doppelbindung zu Dihydrotestosteron, der wirksamen Form des Hormons, umgewandelt.

3.3.1. Löslichkeit von 5 α Dihydrotestosteron

5 α Dihydrotestosteron liegt als ein weißes, kristallines Pulver vor, das in Chloroform, Dioxan, Aceton und Äthanol leicht löslich, in Benzol löslich, in Äther und Pflanzenölen wenig löslich und in Wasser fast unlöslich ist. Chloroform und Dioxan kamen wegen ihrer Toxizität als Lösungsmittel für unsere Versuche nicht in Frage. Das 5 α Dihydrotestosteron löste sich sowohl in Aceton als auch in Äthanol völlig auf, jedoch erst in einer 10%igen Konzentration des jeweiligen Lösungsmittels. 10%iges Äthanol wurde für die höchste Endkonzentrationsstufe von $5,5 \times 10^6$ ng/l als Lösungsmittel verwandt und danach - proportional zur Verminderung der Konzentrationsstufe - um jeweils eine Zehnerpotenz reduziert (d.h. 1%iges Äthanol für $5,5 \times 10^5$ ng/l, 0,1%iges Äthanol für $5,5 \times 10^4$ ng/l usw.).

Die Ergebnisse des Histaminfreisetzungstestes der basophilen Granulozyten zeigten eine eindeutige Hemmung der Histaminfreisetzung in mehreren Konzentrationsstufen nach der Vorinkubation mit dem in Äthanol gelösten 5 α - Dihydrotestosteron. Als Kontrolle wurde zuerst nur die Wirkung der höchsten im Test eingesetzten Äthanolkonzentration auf die basophilen Granulozyten untersucht, eine Histaminfreisetzung (wie z.B. bei der 70%igen Perchlorsäure) wurde hierbei nicht beobachtet. Danach wurde die Wirkung der verschiedenen Äthanolkonzentrationen allein auf die Anti-IgE induzierte Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten untersucht. Die Ergebnisse zeigen, daß sowohl in Äthanol gelöstes 5 α Dihydrotestosteron, als auch die entsprechenden Äthanolkonzentrationen alleine in ähnlichem Maße hemmend auf die Histaminfreisetzung wirkten. Die drei Abschnitte der nachfolgenden Tabelle sowie die Abbildung 2 verdeutlichen den Zusammenhang.

I		II		III	
% HF (50 µl Anti-IgE + 50 µl TCM)		% HF (50 µl Anti-IgE + 50 µl DHT gelöst in Äthanol) DHT-Konzentr.		% HF (50 µl Anti-IgE + 50 µl Äthanol)	Äthanol konz.
$26 \pm 4,5 \%$		$18,4 \pm 4,1 \%$	$5,5 \times 10^4$ ng/l	$17 \pm 4,3 \%$	$8 \times 10^{-3} \%$
$26 \pm 4,5 \%$		$10,7 \pm 3,3 \%$	$5,5 \times 10^5$ ng/l	$11,3 \pm 3,9 \%$	$8 \times 10^{-2} \%$
$26 \pm 4,5 \%$		$4,6 \pm 3,2 \%$	$5,5 \times 10^6$ ng/l	$7 \pm 3,1 \%$	$8 \times 10^{-1} \%$

Tabelle 2

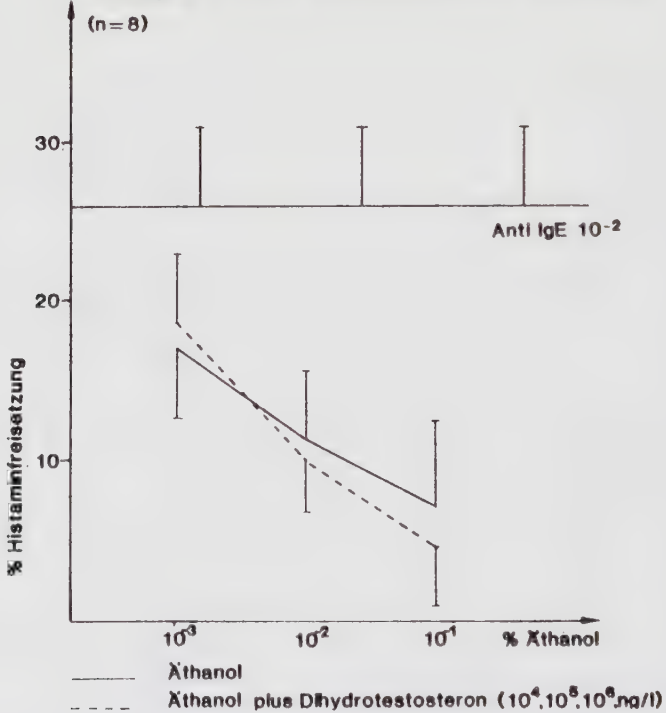
HF = Histaminfreisetzung

DHT= 5 α Dihydrotestosteron

Alle Histaminfreisetzungswerte der Abschnitte II und III waren signifikant ($p < 0,02$) erniedrigt gegenüber dem Wert in Abschnitt I.

Abb.2

Einfluss von Äthanol und Äthanol plus Dihydrotestosteron auf die Anti IgE induzierte Histaminfreisetzung der basophilen Granulozyten



Beim Auflösungsversuch mit Benzol zeigten sich - nach Verdünnung mit TCM-Puffer, der für die Durchführung des Histaminfreisetzungstestes notwendig ist - trotz Schüttelns und Inkubierens zwei getrennte Flüssigkeitsphasen, die die Fortführung der Versuche unmöglich machten.

Nach der Lösung in Äther und weiterem Verdünnen mit TCM-Puffer fiel pulveriges 5 α Dihydrotestosteron aus.

Aceton konnte ebensowenig verwandt werden, da es - wie Äthanol - eine hemmende Wirkung auf die Anti-IgE-induzierte Histaminfreisetzung besitzt.

Die Dichtedifferenz zwischen Öl und Wasser (als Bestandteil des TCM-Puffers) ließ auch die pflanzlichen Öle als Lösungsmittel ausscheiden.

3.3.1.1. Hemmung der Anti-IgE-induzierten Histaminfreisetzung der basophilen Granulozyten durch C₂H₅OH

Um festzustellen, ob Äthanol mit IgE in Wechselwirkung tritt und damit die Histaminfreisetzung hemmt, wurde der folgende Versuch durchgeführt:

Bei dieser Untersuchung wurde das Serum von fünf Atopikern mit den im Testansatz im Endvolumen vorhandenen Äthanolkonzentrationen von 8×10^{-1} bis $8 \times 10^{-4} \%$ 30 Minuten lang im Wasserbad bei 37⁰ C inkubiert und das IgE mittels Phadezym-Papier-Radio-Immuno-Sorbens-Test (PRIST - Deutsche Pharmacia GmbH) bestimmt. Als Kontrolle dienten äthanolfreie Testansätze.

3.3.2. Die Verwendung von 5 α Dihydrotestosteron als Suspension in TCM-Puffer

Nun stellte also der Einsatz von 5 α Dihydrotestosteron als Suspension in TCM-Puffer die einzig sinnvolle Möglichkeit dar, die Versuche fortzuführen.

Die mit Sephadex - einer neutralen Substanz, die wasserunlöslich ist und auch keine Wirkung auf die Histaminfreisetzung besitzt - durchgeführten Kontrollen bestätigen die Vermutung, daß 5α Dihydrotestosteron und nicht das Vorliegen einer Suspension als solcher für den Effekt auf die Anti-IgE bzw. Ca Ionophor-induzierte Histaminfreisetzung verantwortlich ist. Abbildung 3, 4 und 5 verdeutlichen den Zusammenhang.

Abb. 3

Effekt der 5α Dihydrotestosteron (DHT) Suspension auf die Anti IgE b.z.w. Ca Ionophor induzierte Histaminfreisetzung (n=7)

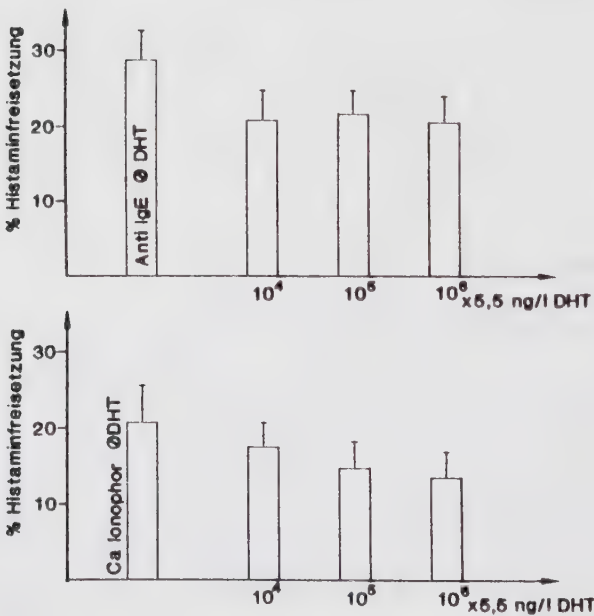


Abb. 4

Histaminfreisetzung der basophilen Granulozyten nach Stimulation mit Ca Ionophor

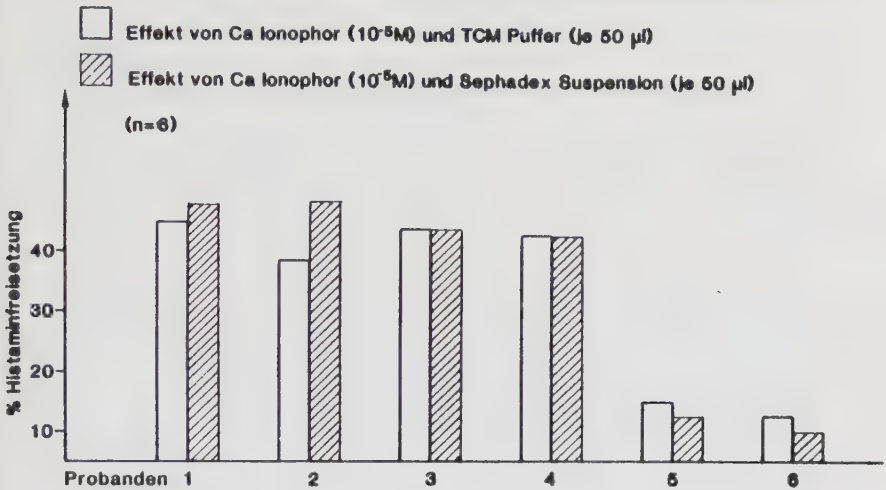
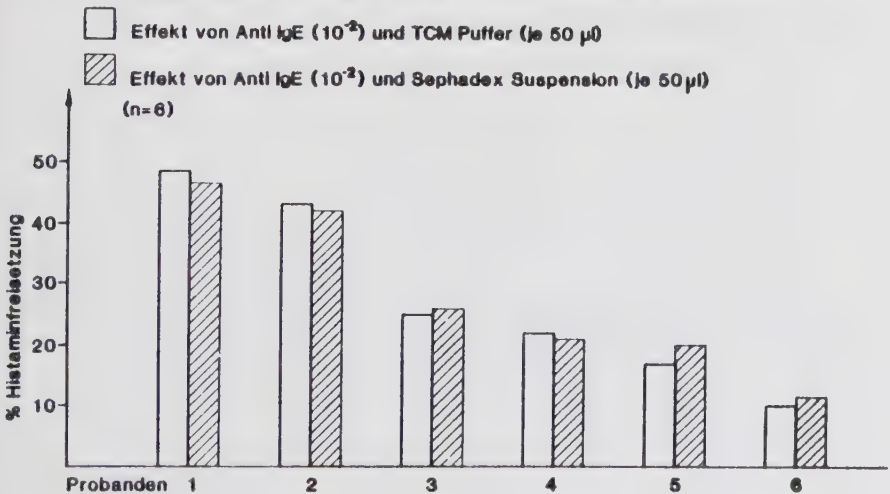


Abb. 5

Histaminfreisetzung der basophilen Granulozyten nach Stimulation mit Anti IgE



3.3.3. Die Versuchsanordnung

Da alle uns bekannten Lösungsmittel des Androgens 5 α -Dihydrotestosteron mit dem weiteren Versuchsablauf auf die unter 3.3.1. beschriebene Weise interferierten, kam dann das Hormon in Form einer Suspension zur Anwendung. Es wurde eine 7stufige Verdünnungsreihe gebildet.

Die 5 α -Dihydrotestosteronkonzentrationen lagen zwischen $5,5 \times 10^0$ und $5,5 \times 10^6$ ng/l und entsprachen bei $5,5 \times 10^2$ ng/l der physiologischen Dihydrotestosteronkonzentration im Serum des Mannes (11). Die Dihydrotestosteronkonzentration im Serum der Frau beträgt 50 ng/l (43).

Die Zellsuspension wurde 10 Minuten lang mit 50 μ l der genannten 5 α -Dihydrotestosteronkonzentrationsstufen in Kunststoffröhrchen im Wasserbad bei 37 $^\circ$ C inkubiert. Es folgte eine 30 Minuten lange Stimulation mit 50 μ l Anti-IgE bzw. Ca Ionophor. Als Kontrolle dienten dihydrotestosteronfreie Testansätze. Die folgenden Versuchsabschnitte wurden nach der bereits beschriebenen Methode durchgeführt.

Bei den basophilen Granulozyten bzw. adenoidalen Mastzellen wurde die gleiche Versuchsanordnung verwandt. Lediglich die Konzentration des Anti-IgE wurde unterschiedlich gewählt, da sich für die Mastzellen eine Konzentration von 10^{-1} , für die basophilen Granulozyten jedoch eine von 10^{-2} als geeignet erwiesen hatte. Beide Zelltypen erfuhren eine Stimulation mit der gleichen Ca Ionophor Konzentration (10^{-5} M).

Die Anlage der Versuche erfolgte in Doppelansätzen.
Die nachstehende Tabelle veranschaulicht das Versuchsschema.

Nr.	Zellsuspen	je 50 µl DHT (ng/l) Endkonz.	Stimulation	Reaktions- dauer
1	500 µl	Ø	100 µl TCM Puffer	Leerwert (30 min)
2	500 µl	Ø	100 µl TCM Puffer	Leerwert (30 min)
3	500 µl	Ø	100 µl Perchl. s. 70%	100% Wert (30 min)
4	500 µl	Ø	100 µl Perchl. s. 70%	100% Wert (30 min)
5	500 µl	$5,5 \times 10^0$	50 µl Anti-IgE in TCM ↑	10 min Vorinkubation + 30 min Stimulation ↓
6	500 µl	$5,5 \times 10^0$		
7	500 µl	$5,5 \times 10^1$		
8	500 µl	$5,5 \times 10^1$		
9	500 µl	$5,5 \times 10^2$		
10	500 µl	$5,5 \times 10^2$		
11	500 µl	$5,5 \times 10^3$		
12	500 µl	$5,5 \times 10^3$		
13	500 µl	$5,5 \times 10^4$		
14	500 µl	$5,5 \times 10^4$		
15	500 µl	$5,5 \times 10^5$		
16	500 µl	$5,5 \times 10^5$		
17	500 µl	$5,5 \times 10^6$		
18	500 µl	$5,5 \times 10^6$		

Tabelle 3

Nr.	Zellsuspen	je 50 µl DHT (ng/l) Endkonz.	Stimulation	Reaktions- dauer
19	500 µl	Ø	50 µl Anti-IgE + (50 µl TCM)	30 min
20	500 µl	Ø	50 µl Anti-IgE + (50 µl TCM)	30 min
21	500 µl	$5,5 \times 10^0$	50 µl Ca Ionophor	10 min Vorinkubation + 30 min Stimulation
22	500 µl	$5,5 \times 10^0$		
23	500 µl	$5,5 \times 10^1$		
24	500 µl	$5,5 \times 10^1$		
25	500 µl	$5,5 \times 10^2$		
26	500 µl	$5,5 \times 10^2$		
27	500 µl	$5,5 \times 10^3$		
28	500 µl	$5,5 \times 10^3$		
29	500 µl	$5,5 \times 10^4$		
30	500 µl	$5,5 \times 10^4$		
31	500 µl	$5,5 \times 10^5$		
32	500 µl	$5,5 \times 10^5$		
33	500 µl	$5,5 \times 10^6$		
34	500 µl	$5,5 \times 10^6$		
35	500 µl	Ø	50 µl Ca Ion. + 50 µl TCM Puffer	30 min
36	500 µl	Ø	50 µl Ca Ion. + 50 µl TCM Puffer	30 min

Tabelle 3

4. Histaminfreisetzung

Die heute am meisten verwendete Methode zur Messung der Histaminkonzentration ist die von Shore et al. entwickelte Messung eines Histamin-O-Phtalaldehyd-Komplexes (90). Die Methode nach Shore umfaßt folgende Schritte:

Zunächst wird die histaminhaltige Lösung mit 5%igem NaCl versetzt und mit NaOH alkalisiert. Es folgt die Reinigung durch Buthanolextraktion, die Kopplung von O-Phtalaldehyd (OPT) an Histamin und schließlich die Aktivierung durch 350 nm. Die spektrofluorometrische Messung wird bei 460 nm durchgeführt.

Nach diesem Prinzip wurde von Siraganian et al. eine automatisierte Methode (Autoanalyser - Technicon) entwickelt (91, 92, 93).

Nach jeder 10. Probenahme wurden zwei Standardwerte (10 ng Histamin pro ml) ermittelt. Damit wurde die Bestimmung des Histamingehaltes der zu untersuchenden Proben möglich.

Formel zur Berechnung der Histaminfreisetzung

$$HF = \frac{MW - LW}{100 \% W - LW} \times 100$$

5. Materialien für Kinetik-Versuche

5.1. TCM-Puffer

1000 ml TCM-Puffer (Tris, Ca^{++} , Mg^{++}) beinhalten:
Tris (25mM), NaCl (120mM), KCl (4mM), MgCl_2 (1 mM),
 CaCl_2 (0,6 mM); pH 7,4
(selbst hergestellt)

5.2. Hanks Lösung

1000 ml Hanks Lösung beinhalten:
NaCl (8 g), KCl (0,4 g), Mg_2SO_4 7 x H_2O (0,1 g),
 $\text{MgCl} \times 6 \times \text{H}_2\text{O}$ (0,1 g), $\text{CaCl}_2 \times 2 \times \text{H}_2\text{O}$ (0,1845 g),
 $\text{Na HPO}_4 \times 12 \times \text{H}_2\text{O}$ (0,152 g), KH_2PO_4 (0,06 g),
Glucose x 1 x H_2O (1,0 g) Na_2CO_3 (0,3 g); pH 7,4
(Zentralapotheke der Kliniken der Universität
München)

5.3. Anti-IgE Serum

Humanes Anti-IgE Serum (Behringwerke, Marburg)
Antiserum gegen menschliches Immunglobulin E
(E-Kette) von Kaninchen.

Antikörpertiter: 4922 79 IU/ul

verwendete Konzentrationen:

5.000 IU/ul ($\pm 10^{-2}$)

50.000 IU/ul ($\pm 10^{-1}$)

5.4. Ca Ionophor A 23187

Ca Ionophor verwendete Konzentration 10^{-5}M

6. Statistische Methoden

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte durch Mittelwertbestimmung, Berechnung der Standardabweichung und Signifikanzbestimmung mittels abhängiger Student-t-Tests.

Die Anleitungen wurden den Büchern "Medizinische Statistik und Informatik" von Selbmann et al. und "Statistische Methoden" von Sachs entnommen (84, 89).

D Ergebnisse

1. Zur Methode der Gewinnung adenoidaler Mastzellen

Das Gewicht der Rachenmandeln schwankte zwischen 1,1 und 3,5 g.

Der Anteil der Mastzellen an der Gesamtzellzahl betrug 7 - 18 %. Die Anzahl der gewonnenen Mastzellen aus adenoidem Gewebe betrug $0,2 - 9 \times 10^5/g$.

Der Histamingehalt pro Zelle lag zwischen 0,1 und $3,2 \times 10^{-3}$ ng.

Die Leerwerte erwiesen sich mit durchschnittlich $44,55 \pm 4,2$ % (9,59 ng/ml) als relativ hoch, was möglicherweise als Folge der Collagenasewirkung zu sehen ist. Unter dem Mikroskop (bei der 400fachen Vergrößerung) erschienen ca. 85 - 90 % der Mastzellen intakt.

Der Gesamthistamingehalt der gewonnenen Mastzellen betrug durchschnittlich $21,69 \pm 3,5$ ng/ml.

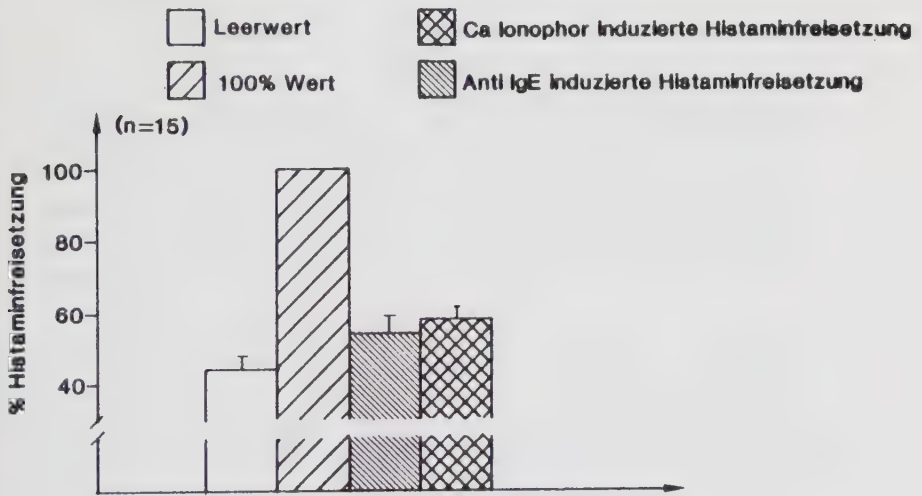
Die nach Stimulation der Zellen mit Anti-IgE bzw. Ca Ionophor erreichte Histaminfreisetzung betrug im Schnitt $9,39 \pm 1,4$ % (2,3 ng/ml) bzw. $12,84 \pm 2,5$ % (2,78 ng/ml).

Tabelle 4 und Abbildung 6 verdeutlichen diese Ergebnisse.

Patienten		Ausbeute an Mastzellen	Anteil der Mastzellen an der Gesamtzellzahl (%)	Histamingehalt ng / Zelle
Nr.	Name	pro Gramm Gewebe		
1	J.C.	$3,5 \times 10^5$	11	$2,5 \times 10^{-3}$
2	S.N.	$5,3 \times 10^5$	12	$2,7 \times 10^{-3}$
3	B.S.	$1,3 \times 10^5$	9	$3,1 \times 10^{-3}$
4	I.M.	$0,2 \times 10^5$	17	$2,4 \times 10^{-3}$
5	S.T.	$6,9 \times 10^5$	14	$1,8 \times 10^{-3}$
6	S.I.	9×10^5	15	$2,1 \times 10^{-3}$
7	N.S.	$4,7 \times 10^5$	7	$3,2 \times 10^{-3}$
8	K.V.	$7,2 \times 10^5$	12	$1,9 \times 10^{-3}$
9	M.R.	$0,9 \times 10^5$	10	$0,4 \times 10^{-3}$
10	M.A.	$4,3 \times 10^5$	18	$1,3 \times 10^{-3}$
11	O.H.	$2,7 \times 10^5$	16	$0,1 \times 10^{-3}$
12	D.M.	$8,3 \times 10^5$	13	$0,9 \times 10^{-3}$
13	R.J.	$7,8 \times 10^5$	16	$3,1 \times 10^{-3}$
14	K.S.	$3,5 \times 10^5$	10	$0,7 \times 10^{-3}$
15	K.B.	$6,5 \times 10^5$	14	$2,9 \times 10^{-3}$

Tabelle 4

Abb. 8 Mittelwerte der Histaminfreisetzung aus adenoidalen Mastzellen



2. Äthanol und die IgE-Messung

Die nach Inkubation der Patientenserum mit Äthanol in den verschiedenen Konzentrationen gemessenen IgE-Werte lagen tendenziell niedriger als die äthanolfreien Kontrollwerte, erwiesen sich jedoch nicht als signifikant.

3. Einfluß von 5α -Dihydrotestosteron auf den Histaminfreisetzungstest der adenoidalen Mastzellen

3.1. Stimulation mit Anti-IgE

Für diesen Versuchsteil standen 15 Probanden (6 Männer, 9 Frauen) zur Verfügung.

Der Mittelwert der Anti-IgE-induzierten Histaminfreisetzung betrug $9,39 \pm 1,4 \%$ und stellte damit etwa ein Zehntel des Gesamthistamins dar.

Die Inkubation mit 5α -Dihydrotestosteron-Suspension in 7 verschiedenen Konzentrationen zeigte keinen wesentlichen Einfluß auf die Anti-IgE-induzierte Histaminfreisetzung. In den Konzentrationen von $5,5 \times 10^6$, 10^5 und 10^4 ng/l machte sich eine tendenzielle, jedoch nur bei der Konzentration von $5,5 \times 10^4$ ng/l signifikante Hemmung ($7,6 \pm 1,3 \%$; $p < 0,02$) der Histaminfreisetzung bemerkbar.

3.2. Stimulation mit Ca Ionophor

Bei der Stimulation mit Ca-Ionophor betrug die induzierte Histaminfreisetzung $12,84 \pm 2,5 \%$. Es zeigte sich nach Inkubation mit 5α -Dihydrotestosteron in fast allen Konzentrationen eine tendenziell geringfügige Hemmung der Histaminfreisetzung. Bei Konzentrationen von $5,5 \times 10^2$, 10^3 und 10^6 ng/l betrug die Histaminfreisetzung $11,1 \pm 2,1 \%$; $11,2 \pm 2,0 \%$ und $10,5 \pm 2,5 \%$.

Abb. 7 Einfluss von Δ^5 Dihydrotestosteron (DHT) auf die Anti IgE induzierte Histaminfreisetzung der adenoidalen Mastzellen
(n = 15)

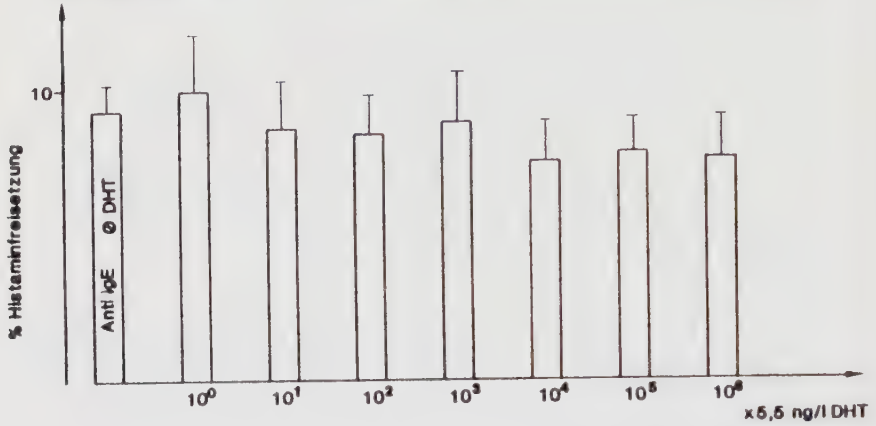
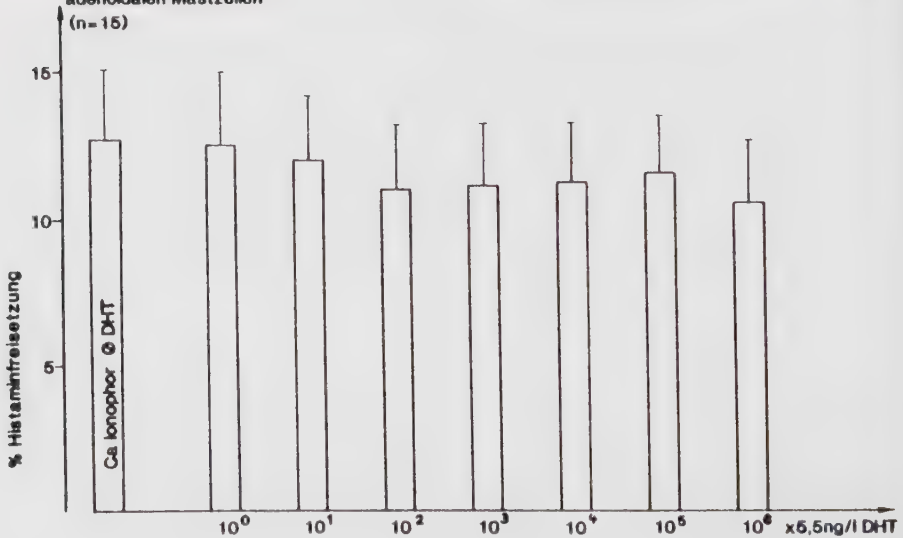


Abb. 8 Einfluss von Δ^5 Dihydrotestosteron (DHT) auf die Ca Ionophor induzierte Histaminfreisetzung der adenoidalen Mastzellen
(n = 15)



3.3. Vergleich der Stimulationsergebnisse mit Anti-IgE bzw. Ca Ionophor

Die Histaminfreisetzungskapazität der Mastzellen erweist sich durch Stimulation mit Ca Ionophor höher als mit Anti-IgE. Der Unterschied der Mittelwerte beträgt 3,5 %. Es wird jedoch insgesamt nur wenig Histamin freigesetzt. Der Leerwert beträgt in beiden Fällen ca. die Hälfte des Gesamthistamingehaltes.

4. Einfluß von 5α Dihydrotestosteron auf die Histaminfreisetzung basophiler Granulozyten

4.1. Stimulation mit Anti-IgE

Der Mittelwert der Anti-IgE-induzierten Histaminfreisetzung betrug $34,83 \pm 4,9 \%$.

Der Mittelwert der Leerwerte lag bei $9,8 \pm 1,2 \%$.

Nach der Vorinkubation mit 5α Dihydrotestosteron-Suspension ließ sich die Histaminfreisetzung herabsetzen und war in den Konzentrationen von $5,5 \times 10^3$, 10^4 und 10^5 ng/l signifikant erniedrigt ($p < 0,05$), wobei die Histaminfreisetzung $29,24 \pm 3,0$; $29,5 \pm 3,0$ und $29,8 \pm 2,8 \%$ betrug.

4.2. Stimulation mit Ca Ionophor

Die Stimulation mit Ca Ionophor und der Einfluß der Inkubation mit 5α Dihydrotestosteron auf die Histaminfreisetzung wurde mit den basophilen Granulozyten derselben Patienten wie in 4.1. durchgeführt.

Der Mittelwert der Ca-Ionophor-induzierten Histaminfreisetzung betrug $21,47 \pm 2,29 \%$. Nach der Inkubation mit 5α Dihydrotestosteron in den Konzentrationen von $5,5 \times 10^4$, 10^5 und 10^6 ng/l wurde eine Hemmung der Ca-Ionophor-induzierten Histaminfreisetzung erreicht, die sich bei einer Konzentration von $5,5 \times 10^5$ als signifikant erwies ($p < 0,05$).

Abb. 9 Einfluss von 5 α Dihydrotestosteron (DHT) auf die Anti IgE induzierte Histaminfreisetzung der basophilen Granulozyten

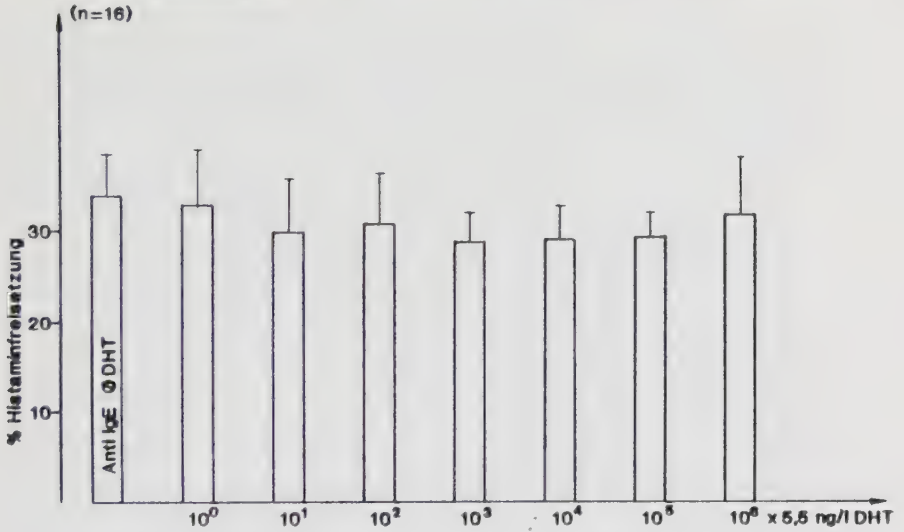
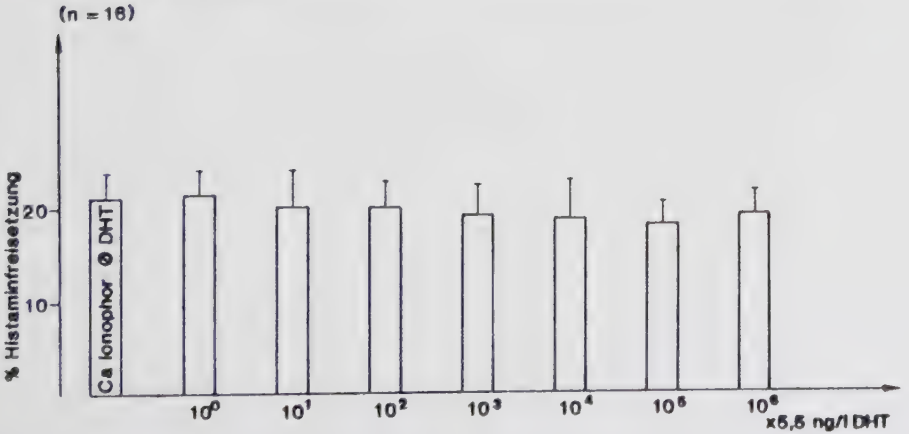


Abb. 10

Einfluss von 5 α Dihydrotestosteron auf die Ca Ionophor induzierte Histaminfreisetzung der basophilen Granulozyten



4.3. Vergleich der Stimulation basophiler Granulozyten mit Ca Ionophor bzw. Anti-IgE

Hierbei erwies sich der Stimulationseffekt von Anti-IgE gegenüber Ca Ionophor als stärker. Bei den Mittelwerten betrug der Unterschied ca. 14 %.

Besonders im Falle der Anti-IgE-induzierten Histaminfreisetzung wirkten die höheren 5 α -Dihydrotestosteron-Konzentrationen hemmend auf die Histaminfreisetzung.

E Diskussion

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, eine möglichst hohe Anzahl an intakten adenoidalen Mastzellen zu isolieren. Weiterhin sollte der Einfluß des männlichen Geschlechtshormons 5α Dihydrotestosteron auf die Histaminfreisetzung der Mastzellen und basophilen Granulozyten untersucht werden.

Die Anzahl der gewonnenen Mastzellen lag zwischen $0,2$ und 9×10^5 /g Gewebe und war damit ausreichend für die Versuchsdurchführung. Der Histamingehalt pro Zelle betrug $0,1$ bis $3,2 \times 10^{-3}$ ng. Die Leerwerte erwiesen sich mit $44,55 \pm 4,2 \%$ ($9,59$ ng/ml) als relativ hoch. Nach Stimulation mit Anti-IgE zeigten die basophilen Granulozyten mit $34,83 \pm 4,9 \%$ eine höhere Histaminfreisetzung als die Mastzellen ($9,39 \pm 1,4 \%$). Auch die Stimulation mit Ca Ionophor wirkte sich stärker auf die Histaminfreisetzung basophiler Granulozyten aus (HF der basophilen Granulozyten: $21,47 \pm 2,29 \%$; HF der Mastzellen: $12,84 \pm 2,5 \%$).

Nach Vorinkubation mit 5α Dihydrotestosteron zeigte sich eine signifikante Hemmung der Anti-IgE induzierten Histaminfreisetzung sowohl der adenoidalen Mastzellen als auch der basophilen Granulozyten in einigen Konzentrationen. Hemmend wirkten sich bei der Histaminfreisetzung basophiler Granulozyten die 5α Dihydrotestosteron-Konzentrationen von $5,5 \times 10^3$, 10^4 und 10^5 ng/l aus, während bei den Mastzellen die Konzentration von $5,5 \times 10^4$ ng/l diese Wirkung hatte.

Die Hemmung der Ca Ionophor induzierten Histaminfreisetzung nach Vorinkubation mit 5α Dihydrotestosteron erwies sich nur bei basophilen Granulozyten als signifikant, wenn eine Hormonkonzentration von $5,5 \times 10^5$ ng/l verwendet wurde.

1. Mastzellgewinnung aus menschlichen Adenoiden und ihre Stimulation mittels Anti-IgE bzw. Ca Ionophor

Sowohl basophile Granulozyten als auch Mastzellen besitzen die Fähigkeit zur Histaminfreisetzung, sind jedoch nicht identisch (52, 71, 81). Mastzellen haben einen runden und nicht segmentierten Kern, ihre Granula sind Chloresterase positiv und nicht wasserlöslich, während die basophilen Granulozyten einen segmentierten Kern sowie wasserlösliche Granula haben und Chlor-esterase negativ sind (34, 52, 81, 105).

Mastzellen befinden sich im Bindegewebe der hämatopoetischen und lymphatischen Organe, sowie im Stratum papillare der Haut (31, 52). Da man diese Zellart nur unter sehr aufwendigen und für den Patienten unangenehmen Bedingungen aus dem Stratum papillare der Haut isolieren kann, um den in-vitro-Einfluß von verschiedenen Substanzen auf die Histaminfreisetzung zu untersuchen, liegt die Frage nahe, welches Gewebe sich am besten eignet, um humane Mastzellen zu gewinnen.

Adenoide (Rachenmandeln) werden im Rahmen der Adenotomie bei einem Großteil der Kinder im Alter zwischen 3 und 8 Jahren entfernt, um Atem- und Entwicklungsstörungen der Patienten durch Hyperplasie der Rachenmandel zu beheben. Adenoide eignen sich im Vergleich zu den Gaumenmandeln besser zur Gewinnung von Mastzellen, weil das Gewebe nicht von Vernarbungen durchsetzt ist (86). Die Nasenschleimhaut scheidet auch als Substrat aus, da man nur kleine Mengen gewinnen kann (86).

Nach zahlreichen Versuchen konnten wir eine Methode zur Mastzellisolierung aus menschlichen Adenoiden entwickeln. Obwohl der Histamin-Leerwert mit fast 50 % des Gesamthistamingehaltes der Mastzellen relativ hoch war, wirkte er sich auf die Ergebnisse nur in einem geringen Maße aus. Es wäre durchaus denkbar, daß die Collagenase Membrandefekte hervorruft, ohne jedoch die Zellen zu zerstören. Unter dem Mikroskop erschienen die Mastzellen (bei 400facher Vergrößerung) intakt. Die Gruppe um Austen beschäftigte sich mit der Isolierung der Mastzellen aus menschlichem Lungengewebe unter Einsatz verschiedener Enzyme, äußert sich jedoch nicht zu den Histamin-Leerwerten (3).

Die Ausbeute an Zellen pro Gramm Gewebe lag, gemessen an den Ergebnissen der Arbeitsgruppe um Schmutzler, etwas höher (86).

Der erzielte Degranulationseffekt durch Ca Ionophor war höher als durch Anti-IgE. Möglicherweise konnte das Ca Ionophor leichter in die partiell durch Collagenase angegriffene Membran penetrieren und dort eine Histaminfreisetzung der Granula bewirken. Vielleicht wurden ein Teil der an die Mastzellmembran gekoppelten IgE-Moleküle nach Kontakt mit der Collagenase von ihrer Bindung gelöst und konnten nicht mehr auf die Stimulation durch Anti-IgE reagieren. Insgesamt war ja die Stimulierbarkeit der Zellen relativ niedrig, die Hälfte der Histaminfreisetzungskapazität war schon vor der Stimulation erschöpft.

Eine andere mögliche Ursache für den hohen Histamin-Leerwert besteht in der Verwendung eines Ca-haltigen Mediums für die Resuspension der adenoidalen Mastzellen. Die Arbeit von Eichelberg et al. zeigt zwar, daß nach Kontakt mit Ca-freiem Medium die Stimulation der Mastzellen eine fast um die Hälfte erniedrigte Histaminfreisetzung bewirkt als nach Resuspension in Ca-haltigem Medium, diskutiert jedoch nicht, ob das Ca-haltige Resuspensionsmedium den Leerwert der Histaminfreisetzung erhöht (19).

2. Zur Äthanolwirkung auf die Histaminfreisetzung basophiler Granulozyten

Der Papier-Radio-Immuno-Sorbens-Test zeigte eine Abnahme der IgE-Werte nach Inkubation mit den jeweiligen Äthanolkonzentrationen. Bei höheren Äthanolkonzentrationen zeigte sich ein niedriger IgE-Wert. Dieses Phänomen könnte damit erklärt werden, daß Äthanol im Histaminfreisetzungstest IgE angreift und dessen Funktion beeinträchtigt, so daß ein kleinerer Anteil an Histamin freigesetzt wird. Wenn mit Ca Ionophor stimulierte Zellen - auch in Anwesenheit von Äthanol - in ihrer Histaminfreisetzungsfähigkeit gegenüber dem Äthanol-freien Kontrollwert nicht behindert wären, könnte diese Annahme bestätigt werden.

Die signifikante Hemmung der Histaminfreisetzung nach Inkubation der basophilen Granulozyten mit Äthanol und mit in Äthanol gelöstem 5 α -Dihydrotestosteron wäre auch anders erklärbar. Weiß und Fertel zeigten, daß Morphine und auch Äthanol einen Einfluß auf die Adenylcyclaseaktivität haben, die wiederum durch ihre Erhöhung eine Hemmung der Histaminfreisetzung veranlaßt (102). Dies könnte darauf hindeuten, daß bei chronisch erhöhtem Alkoholspiegel im Blut weniger Histamin freigesetzt wird und somit Hauterkrankungen, die von diesem Parameter abhängen, seltener auftreten. Die im Versuch verwandte Äthanolkonzentration von 0,8 % zeigte eine signifikante Hemmung der Anti-IgE induzierten Histaminfreisetzung.

3. Unterschiede der Reagibilität von Mastzellen und basophilen Granulozyten auf Anti-IgE bzw. Ca Ionophor

Die basophilen Granulozyten zeigten eine höhere Empfindlichkeit gegenüber der Anti-IgE-Stimulation als die Mastzellen, eine Tatsache, die wiederum die Ergebnisse der Arbeitsgruppe um Lichtenstein bestätigt (24). Auch Ca Ionophor wirkte stärker bei der Stimulation der basophilen Granulozyten als der Mastzellen.

4. Einfluß von 5 α Dihydrotestosteron auf die Anti-IgE bzw. Ca Ionophor induzierte Histaminfreisetzung

Androgene sind C₁₉ Steroide. Die Synthese des Testosterons, Hauptvertreter der Androgene, erfolgt in den Leydigschen Zwischenzellen des Hodens. Auch die Nebennierenrinde setzt Androgene frei, die jedoch schwächer wirksam sind als das Testosteron, z.B. Androstendion und Dehydroepiandrosteron (4, 11, 23, 29, 43, 48, 85). Die Synthese und die Sekretion von Testosteron durch die Gonaden wird von den Gonadotropinen des Hypophysenvorderlappens gesteuert.

Die Inaktivierung der Androgene erfolgt in der Leber durch Reduktion zu Androsteron und Ätiocholanolon (17-Ketosteroide) und anschließend durch Konjugation vorwiegend mit Sulfat.

Zur Durchführung der Versuche wurde 5 α Dihydrotestosteron, die physiologisch aktive Form des Testosterons verwandt (23, 97).

Die Vorinkubation mit diesem Hormon veranlaßte sowohl bei den basophilen Granulozyten, als auch bei den Mastzellen eine Hemmung der Anti-IgE bzw. Ca Ionophor induzierten Histaminfreisetzung. Es ist bekannt, daß einige Substanzen durch Bindung an die Adenylcyclase eine Erhöhung von CAMP erreichen und damit die Histaminfreisetzung hemmen können (8, 12, 16, 44, 47, 54, 60, 61). Eine Erhöhung der Phosphodiesterase wirkt diesem Mechanismus entgegen (78, 98, 99, 102, 104).

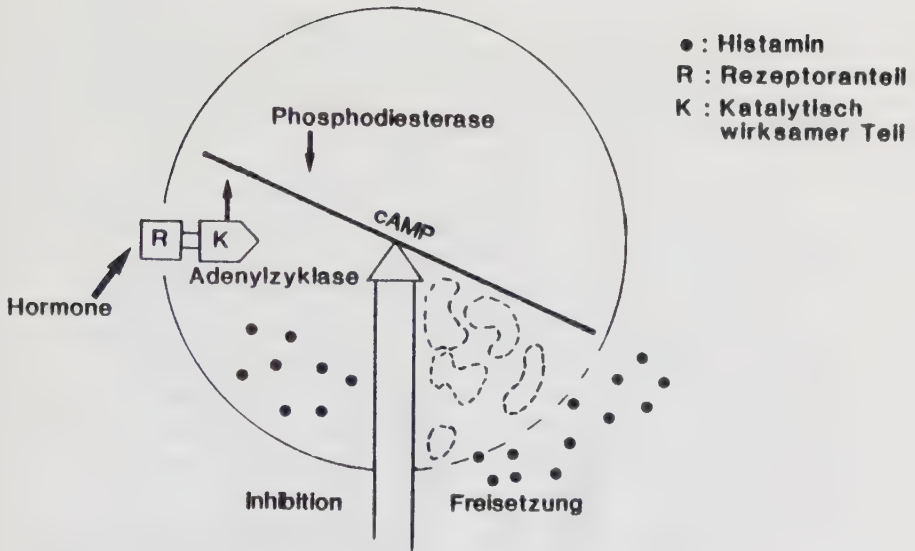


Abb. 11 : Schematische Darstellung der cAMP Wirkungsweise im Intrazellulären Bereich (75)

Falls 5α Dihydrotestosteron auf intrazelluläre Mechanismen wirkt, dürfte kein Unterschied in der Hemmwirkung auf die durch Anti-IgE bzw. Ca Ionophor verursachte Histaminfreisetzung bestehen; vorausgesetzt, die hormonfreien Kontrollen besitzen gleiche Ausgangswerte. In Anwesenheit von Anti-IgE kommt es zur Brückenbildung zwischen benachbarten IgE Molekülen, die dann über eine Enzymaktivierung zur Histaminfreisetzung führen. Ca Ionophor wiederum wirkt durch direkte Bindung und Transport von Ca^{++} in die Zelle. Hier kommt es dann zu einer von Lyso-phospholipiden und Fettsäuren abhängigen Histaminfreisetzung (22, 52, 56, 100).

Die Vorinkubation mit 5α Dihydrotestosteron könnte in beiden Fällen über eine Erhöhung des cAMP nach Bindung an die Adenylcyclase eine Hemmung der Histaminfreisetzung bewirkt haben.

In vivo wäre es auch denkbar, daß das physiologischerweise vorkommende Hormon 5α Dihydrotestosteron über den Mechanismus der Adenylcyclase die Histaminfreisetzung hemmt. Das bedeutet, daß Männer in geringerem Maße unter Krankheitserscheinungen leiden müßten, die mit erhöhter Mediatorfreisetzung einhergehen. Diese Annahme könnte ihr klinisches Korrelat finden in der Beobachtung, daß z.B. das atopische Ekzem bei der Frau doppelt so häufig vorkommt wie beim Mann (6, 73, 74).

Im Übrigen beginnt das atopische Ekzem bei jungen Männern kaum während der Pubertät (6, 51, 73). Diese Beobachtung läßt sich möglicherweise darauf zurückführen, daß 5α Dihydrotestosteron im Serum während dieser Zeit auf den physiologischen Wert beim Mann ansteigt.

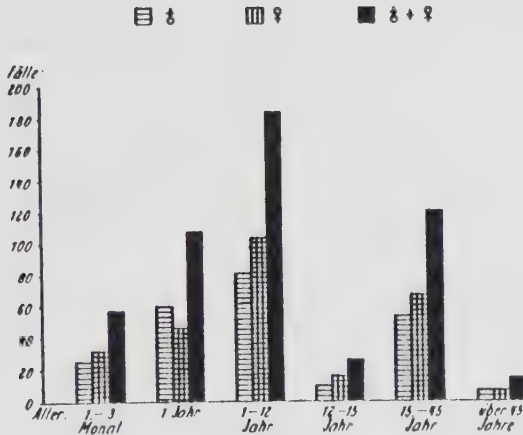


Abb. 12: Erstmanifestation des atopischen Ekzems (509 Fälle) aus (51).

Für das atopische Ekzem ist eine Minderung der zellulären Immunität bekannt, die mit einer verminderten T-Suppressor, erhöhter T-Helferzellenanzahl und erhöhter Anzahl IgE-tragender B-Lymphozyten einhergeht (14, 27, 32, 33, 42, 45, 46, 58, 59, 65, 70, 87, 103). Diese Beobachtung wäre möglicherweise damit zu erklären, daß 5 α -Dihydrotestosteron auch auf die Regulation des Immunsystems Einfluß nimmt.

In Tierversuchen haben Roubinian et al. gezeigt, daß der bei männlichen, kastrierten Mäusen vorkommende Lupus erythematodes einen prognostisch wesentlich ungünstigeren Verlauf zeigt als bei nichtkastrierten (82, 83). Fang und Liao konnten nachweisen, daß 5α -Dihydrotestosteron durch eine spezifische Bindung an ein cytoplasmatisches Protein in der Lage ist, den Zellkern zu penetrieren (21).

Schon in den frühen 60iger Jahren stellte Tatjana Assaykeen in tierexperimentellen Untersuchungen der Prostata von Mäusen, Ratten und Kaninchen fest, daß Androgene den Histaminspiegel im Organ hemmend beeinflussen, konnte sich die Ursache dieser Beobachtung jedoch nicht erklären (2).

Die Gruppe um Spaulding wies ebenfalls auf einen Zusammenhang zwischen Androgenen und Histamin hin (96). Sie setzten erfolgreich die Methyltestosteron-Therapie für das hereditäre angio-neurotische Ödem ein.

Daß die Histaminfreisetzung mediatorsezierender Zellen nach Stimulation mit Anti-IgE durch 5α -Dihydrotestosteron in einigen Konzentrationen gehemmt wurde, könnte für einen Hormonrezeptor sprechen, der in gewisser Weise mit der Ausbildung einer Anti-IgE-Bindung interferiert.

Die Ca Ionophor-induzierte Histaminfreisetzung wurde in geringerem Maße gehemmt als die Anti-IgE-induzierte; möglicherweise verhindern die vermuteten 5 α Dihydrotestosteron-Rezeptoren nicht die Penetration des Ca Ionophors in die Membran.

Um zu prüfen, ob es sich um eine hormonspezifische Wirkung handelt, müßte untersucht werden, ob die Hemmwirkung nach Vorinkubation mit einem Anti-Androgen aufgehoben wird.

○ Es wäre möglicherweise von Bedeutung, auch die Wirkung der weiblichen Geschlechtshormone auf die Histaminfreisetzung zu untersuchen.

Bezüglich des Progesterons kamen Bosse und Ladebeck zu dem Ergebnis, daß eine Korrelation zwischen der Größe der kutanen Histaminquaddel und dem Menstruationszyklus der Frau besteht; je höher der Progesteronspiegel, desto geringer die Histaminquaddel (7).

Fabry und Mitarbeiter stellten eine Untersuchung an, die sich mit dem Vergleich der Größe der Histaminquaddeln verschiedener Probanden vor und nach Injektion mit Progesteron befaßte. Es zeigte sich, daß der Quaddel-Durchmesser nach der Injektion signifikant kleiner war (20).

Slater et al. setzen sich seit kurzem mit der Wirkung des Progesterons auf die mediatorsezernierenden Zellen auseinander (95). Bisher sind uns jedoch keine signifikanten Ergebnisse bekannt.

F Zusammenfassung

Veränderte Freisetzungsfähigkeit von vasoaktiven Mediatoren, wie z.B. Histamin, spielt bei der Pathogenese des atopischen Ekzems und allergischer Reaktionen vom Soforttyp eine bedeutende Rolle.

Untersucht wurde die Wirkung des männlichen Hormons 5α Dihydrotestosteron auf die Histaminfreisetzung basophiler Granulozyten und adenoidaler Mastzellen. Zur Isolierung adenoidaler Mastzellen haben wir eine eigene Methode entwickelt.

Von 16 Probanden (9 Männer, 7 Frauen) im Alter von 16 - 64 Jahren wurden periphere Leukozyten gewonnen, von weiteren 15 Probanden (6 männlich, 9 weiblich) aus den Rachenmandeln nach Adenotomie Mastzellen isoliert. Die Anzahl der gewonnenen Mastzellen aus adenoidem Gewebe betrug $0,2 - 9 \times 10^5/\text{g}$. Der Histamingehalt pro Zelle lag zwischen $0,1$ und $3,2 \times 10^{-3}$ ng. Die Suspensionen wurden auf eine Zelldichte von $10^6/\text{ml}$ eingestellt und 10 Minuten lang mit 5α Dihydrotestosteron inkubiert. Anschließend folgte eine 30minütige Stimulation mit Anti-IgE bzw. Ca Ionophor. Die Histaminfreisetzung wurde spektrofluorometrisch (Methode nach Siraganian) bestimmt.

Nach Inkubation der basophilen Granulozytensuspension mit 5α Dihydrotestosteron wurde die Anti-IgE-induzierte Histaminfreisetzung signifikant ($p < 0,05$) gehemmt. Bei Stimulation der gleichen Zellsuspension mit Ca Ionophor wurde eine signifikante Hemmung der Histaminfreisetzung nach Inkubation mit 5α Dihydrotestosteron ($p < 0,05$) erreicht.

Die Histaminfreisetzungskapazität der basophilen Granulozyten erweist sich durch Stimulation mit Anti IgE höher als mit Ca Ionophor. Für die Mastzellenstimulation trifft das Gegenteil zu. Hier machte sich eine signifikante Hemmung der Anti-IgE-induzierten Histaminfreisetzung nach Inkubation der Zellsuspension mit 5 α Dihydrotestosteron bemerkbar.

Die Ca Ionophor-induzierte Histaminfreisetzung ließ sich nach Inkubation der Zellsuspension mit 5 α - Dihydrotestosteron nur tendenziell erniedrigen.

Die aufgeführten Ergebnisse einer geschlechtshormonabhängigen Regulation der Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten bzw. Mastzellen könnte für das atopische Ekzem und andere Erkrankungen allergischer Genese von Bedeutung sein.

G Literaturverzeichnis

1. Ash ASF, Schild HO (1966) Receptors mediating some actions of histamine. *Brit J Pharmacol* 27: 427
2. Assaykeen TA, Thomas JA (1965) Endogenous histamine in male organs of reproduction. *Endocrinology* 76: 839
3. Austen KF (1974) Reaction mechanisms in the release of mediators of immediate hypersensitivity from human lung tissue. *Fed Proc* 33:2256-2262
4. Auterhoff H (1980) Lehrbuch der pharmazeutischen Chemie. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart pp. 542-549
5. Bennich H, Johansson SGO (1971) Structure and function of human IgE. *Adv Immunol* 13: 1
6. Borelli S, Schnyder UW (1962) Neurodermitis constitutionalis sive atopica. II. Teil: Ätiologie, Pathophysiologie, Pathogenese, Therapie. In: Miesche G, Storck H (eds) *Entzündliche Dermatosen I*, Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg (Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten, Suppl. Vol. II/1, pp. 254-318)
7. Bosse K, Ladebeck H (1972) Die kutane Histaminquaddel in Korrelation zum Zyklus der Frau. *Z Hautkr* 47: 365-370
8. Bourne HR, Lichtenstein LM, Melmon KL (1972) Pharmacological control of allergic histamine release in vitro: evidence for an inhibitory role of 3', 5'-adenosine monophosphate in human leucocytes. *J Immunol* 108: 695-701
9. Braun-Falco O, Plewig G, Wolff HH (1984) *Dermatologie und Venerologie*. Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York, Tokyo, pp 310-318

10. Braun-Falco O, Ring J (1984) Zur Therapie des atopischen Ekzems. *Hautarzt* 35: 447-454
11. Brotherton J (1976) Sex hormone pharmacology. Academic Press London pp 303
12. Busse WW Lee-Ping L (1976) Decreased adrenergic responses in lymphocytes and granulocytes in atopic eczema. *J Allergy clin Immunol* 58: 586-596
13. Champion RH, Parish WE (1979) Atopic dermatitis. In: Rook A (ed) *Textbook of dermatology*, 3rd ed, Vol 1 Blackwell, Oxford pp 349-361
14. Conroy MC, Adrinson NF, Lichtenstein LM (1977) Measurement of IgE on human basophiles. Relation to serum IgE and anti-IgE induced histamine release. *J Immun* 118: 1317-1324
15. Conroy MC (1981) Releasability— a new dimension in basophil and mastcell reactivity. In: *New Trends in Allergy*. Ring J, Burg G (eds). Springer Berlin, pp 40-45
16. Coulson CJ, Ford RE, Marshal S, Walker JL, Wooldrige KRH, Bowden K, Coombs RJ (1977) Inter-relationship of cyclic nucleotides and anaphylactic reactions. *Nature* 265: 545-547
17. Coca AF, Cooke RA (1923) On the classification of the phenomena of hypersensitiveness. *J Immun* 8: 163
18. Ehrlich WE (1956) Die Entzündung. In: Roulet F (ed) *Handbuch der Allg. Pathologie* Vol VII/1
19. Eichelberg D, Peters R, Schmutzler W (1984) Recognition of the calcium paradox' and the effects of verapamil and gallopamil in human adenoidal mast cells. *Agents and Actions* 14: 410-413

20. Fabry H (1976) Immunsuppressive Wirkung des Gelb-körperhormons? Z Hautkr 51: Suppl 2: 137-143
21. Fang S, Liao S (1971) Androgen receptors. J biol Chem 246: 16-24
22. Foreman JC, Monger JL, Gomperts BD (1973) Calcium ionophore and movement of Calcium ions. Nature 245: 249-251
23. Forth W, Henschler O, Rummel W (1977) Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Bibliograph Inst Mannheim-Wien-Zürich, pp 322-339
24. Fox CC, Kagey-Sobotka A, Schleimer RP, Peters SP, MacGlashan DW jr, Lichtenstein LM (1985) Mediator release from human basophils and mast cells from lung and intestinal mucosa. Int Archs Allergy appl Immun 77: 130-136
25. Freeham W, Small R (1941) Effect of testosterone proprionate on various responses of immature rats. Endocrinology 29: 758
26. Gallin JI, Metcalf JA, Roos D, Seligmann B, Friedman MM (1984) Organelle-depleted human neutrophil cytoplasts used to study FMET-LEU-PHE receptor modulation and cell function. J Immun 133: 415-421
27. Hanifin JM, Lobitz UC (1977) Newer concepts of atopic dermatitis. Arch Dermatol 113: 663-670
28. Hanifin JM, Rajka G (1980) Diagnostic features of atopic dermatitis. Acta derm venr suppl 92: 44-47
29. Harper, Löffler, Petrides, Weiss (1975) Physiologische Chemie, Springer, Berlin-Heidelberg-New York, pp 642-645

30. Hauschild T, Montag H, Bauer R (1984) Das endogene Ekzem. *Therapiewoche* 34: 5690-5698
31. Hellmann T (1978) Der lymphatische Rachenring. In: *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen V*, 1. Springer Berlin-Heidelberg-New York, pp 245-266
32. Heymanns J, Behrend H, Schmutzler D (1982) Comparative studies of mast cells from normal (non-immunized) and actively sensitized dogs. *Agents and Actions* 12: 192-198
33. Hodgkinson GI, Everell IO, Smith HV (1977) Immuno-fluorescent patterns in Besnier's disease. *Brit J Derm* 96: 357-366
34. Holgate ST, Lewis RA, Austen RF (1981) Mast cell activation and secretion. In: *New trends in allergy*, Springer, Berlin-Heidelberg-New York, pp 9-19
35. Ishizaka K, Ishizaka T (1967) Identification of IgE antibodies as a carrier of reaginic activity. *J Immunol* 99: 1187-1198
36. Ishizaka K, Ishizaka T (1968) Human reaginic antibodies and IgE. *J Allergy* 42: 330-363
37. Ishizaka T, Ishizaka K, Johnsson SG, Bennich H (1969) Histamine release from human leukocytes by anti-IgE antibodies. *J Immunol* 102: 884-892
38. Ishizaka T, Soto CS, Ishizaka K (1973) Mechanisms of passive sensitization. III. Number of IgE molecules and their receptor sites on human basophil granulocytes. *J Immunol* 111: 500-511
39. Ishizaka T, Ishizaka K (1978) Triggering of histamine release from rat mast cells by divalent antibodies against IgE-receptors. *J Immunol* 120: 800-805

40. Ishizaka T (1979) Membrane events in the triggering of mast cells. In: The mast cell (Pepys J, Edwards A, eds), Pitman medical publishing Co, Ltd, Kent, England, pp 21-29
41. Ishizaka T, Hirata F, Ishizaka K, Axelrod J (1980) Stimulation of phospholipid methylation Ca^{2+} -influx and histamine release by bridging of IgE receptors on rat mast cells. Proc Nat Acad Sci 77: 1903-1906
42. Jarisch R (1981) T cell defects in atopic dermatitis: Therapeutic consequences. In: New trends in Allergy (Ring J, Burg G, eds), Springer, Berlin, pp 231-236
43. Jeffcoate SL (1982) Androgens and antiandrogen therapy. John Wiley & Sons, London, pp 24-83
44. Johnson AR, Moran NC, Mayer SE (1974) Cyclic AMP content and histamine release in rat mast cells. J Immunol 112: 511-517
45. Jones HE, Inouye JC, McGerity JL, Lewis CW (1975) Atopic disease and serum IgE. Brit J Dermatol 92: 17
46. Juhlin L, Johansson SGO, Benich H, Hoegmann C, Thyresson J (1969) IgE in dermatoses. Levels in atopic dermatitis and urticaria. Archs Derm 100: 12-16
47. Kaliner M (1977) Human lung tissue and anaphylaxis. Evidence that cyclic nucleotides modulate the immunologic release of mediators through effects on microtubular assembly. J Clin Invest 60: 951-959
48. Karlson, P (1977) Kurzes Lehrbuch der Biochemie. Thieme, Stuttgart, pp 322-323

49. Katz G, Cohen S (1971) Experimental evidence of histamine in allergy. *J Mer Med Assoc* 117: 1782-1794
50. Koenig W (1981) The IgE receptor. In: *New Trends in Allergy* (Ring J, Burg G, eds), Springer, Berlin-Heidelberg-New York, pp 21-39
51. Korting GW (1959) *Dermatologie und Venerologie* (Gotttron HA, Schönfeld W, eds). Band III, Teil I, Thieme, Stuttgart, pp 565
52. Leder, LD (1981) The mast cell: Morphology and Ontogeny. In: *New Trends in Allergy* (Ring J, Burg G, eds), Springer, Berlin-Heidelberg-New York, pp 2-8
53. Lichtenstein LM, Osler, AG (1964) Studies on the mechanisms of hypersensitivity phenomena. IX. Histamine release from human leukocytes by ragweed pollen antigen. *J exp Med* 120: 507
54. Lichtenstein LM, Margolis S (1968) Histamine release in vitro: Inhibition by catecholamines and methyl-xanthines. *Science* 161: 902-903
55. Lichtenstein LM, Levy DA, Ishizaka K (1970) In vitro reversed anaphylaxis: Characteristics of anti-IgE - mediated histamine release. *Immunology* 19: 831-842
56. Lichtenstein LM (1975) The mechanisms of basophil histamine release induced by antigen and by the calcium ionophore A 23187. *J Immunol* 114: 1692
57. Lichtenstein LM, MacGlashan DW jr (1986) The concept of basophil releasability. *J Allergy Clin Immunol* 77: 291-294
58. Lobitz WC, Honeyman JF, Winkler NW (1972) Suppressed cell-mediated immunity in two adults with atopic dermatitis. *Brit J Dermatol* 86: 317-328

59. Luckasen JR, Sebad A, Goltz RW, Hersey JH (1974)
T and B lymphocytes in atopic eczema. Arch Dermatol 110: 375-377
60. Marone G, Plaut M, Lichtenstein LM (1978) Characterisation of a specific adenosine receptor on human lymphocytes. J Immunol 121: 2153-2159
61. Marone G, Findlay SR, Lichtenstein LM (1979)
Adenosine receptor on human basophils: Modulation of histamine release. J Immunol 123: 1473-1477
62. Marone G, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM (1981)
IgE-mediated histamine release from human basophils: Differences between antigen E- and Anti-IgE-induced secretion. Int Archs Allergy appl Immun 65: 339-348
63. Marone G, Columbo M, Soppelsa L, Coniporelli M (1984) The mechanism of basophil histamine release induced by pepstatin A¹. J Immunol 133: 1542-1546
64. Marone G, Petracca R, Vigorita S (1985) Adenosine receptors on human inflammatory cells. Int Archs Allergy appl Immun 77: 259-263
65. McGeady SJ, Buckley RH (1975) Depression of cell-mediated immunity in atopic eczema. J Allergy Clin Immunol 56: 393-406
66. Metzger H, Wank SA, Rivnay B (1983) The receptor for IgE. Taking it apart - putting it back together. Monogr in Allergy 18: 1-13
67. Ono S, Zompetti L, Hagen P, Furth J (1959)
Relation of mastocytoma to mast cell leukemia, and of heparin, histamine, and serotonin to mast cells. Blood 14: 770-780

68. Osler AG, Lichtenstein LM, Levy DA (1968) In vitro studies of human reaginic allergy. *Adv Immunol* 8: 183-231
69. Padawer J (1979) Mast cell structure. Implications for normal Physiology and function. In: *The mast cell* (Pepys, J, Edwards A, eds), Pitman medical publishing Co, Ltd Kent, England, pp 1-8
70. Palacios J, Marone G, Fuller EW, Blaylock UK (1966) Immunological capabilities of patients with atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 47: 484
71. Patterson NAM, Wasserman SI, Said JW, Austen KF (1976) Release of chemical mediators from partially purified human lung mast cells. *J Immunol* 117: 1356-1362
72. Pirquet C v (1906) Allergie. *MÜnch Med Wochenschr* 30: 1457
73. Rajka G (1975) Atopic dermatitis. Saunders, London
74. Rajka G (1983) Atopic dermatitis. In: *Recent advances in dermatology* (Rook AJ, Maibach HI, eds). Nb 6 Churchill Livingstone, Edinburgh-London-Melbourne-New York, pp 105-126
75. Ring J (1978) Zyklisches Adenosin-3'5'-Monophosphat (cAMP) und Allergie. *Hautarzt* 29: 625-631
76. Ring J (1979) Atopic dermatitis: A disease of general vasoactive mediator dysregulation. *Int Archs Allergy appl Immunol* 59: 233-239
77. Ring J, O'Connor R (1979) In vitro histamine and serotonin release studies in atopic dermatitis. *Int Archs Allergy appl Immunol* 58: 322-330
78. Ring J, Mathison DA, O'Connor R (1981) In vitro cyclic nucleotide responsiveness of leukocytes and platelets in patients suffering from atopic dermatitis. *Int Archs Allergy appl Immunol* 65: 1-7

79. Ring J (1981) Mechanismen in der akuten allergischen Reaktion. Münch Med Wochenschr 124: 1670
80. Ring J (1982) Angewandte Allergologie. Münch Med Wochenschr, Medizin-Verlag München
81. Ross HM, Reith EJ (1985) Histology. A text and atlas, Harper Int Edition New York, pp 179-181
82. Roubinian JR, Papoian R, Talal N (1977) Androgenic hormones modulate autoantibody responses and improve survival in murine lupus. J Clin Invest 59: 1066-1070
83. Roubinian JR, Talal N, Greenspan JS, Goodman JR, Shteri PK (1979) Delayed androgen treatment prolongs survival in murine lupus. J Clin Invest 63: 902
84. Sachs L (1982) Statistische Methoden. Springer
85. Schmidt RF, Thews G (1977) Physiologie des Menschen. Springer, Berlin-Heidelberg-New York, pp 668-673
86. Schmutzler W, Krämer A, Rosenkranz U, Fischer B, Pult P, Goertz W, Behrendt H (1978) Eigenschaften isolierter menschlicher Mastzellen. Anat Ges 72:373-374
87. Schöpf E (1974) Störung zellvermittelter Immunreaktionen bei Neurodermitis atopica. Verminderte Spontanrosettenbildung von T-Lymphozyten. Dermatologica 149: 210
88. Segal DM, Taurog JD, Metzger H (1977) Dimeric IgE serves as a unit signal for mast cell degranulation. Proc Nat Acad Sci 74: 2993-2997
89. Selbmann B, Überla K, Greiner P (1976) Medizinische Statistik und Informatik. Springer, Berlin
90. Shore PA, Burkhalter A, Cohn UH (1959) A method for the fluorometric assay of histamine in tissues. J Pharmacol exp Ther 127: 182-191
91. Siraganian RP (1974) An automated continuous-flow system for the extraction and fluorometric analysis of histamine. Anal Biochem 57: 383

92. Siraganian RP (1975) Automated histamine release. A method for in vitro allergy diagnosis. *Int Archs Allergy appl. Immunol* 49: 108-110
93. Siraganian RP, Brodsky MJ (1976) Automated histamine analysis for in vitro allergy testing. I. A method utilizing allergen-induced histamine release from whole blood. *J Allergy Clin Immunol* 57: 525-540
94. Siraganian RP (1976) Complement-induced histamine release from human basophils. *J Immunol* 116: 639-646
95. Slater JE, Kaliner MA (1985) Effect of the sex steroids on basophil histamine release. *J Allergy Clin Immunol* 75: 176
96. Spaulding WB (1960) Methyltestosterone therapy for hereditary episodic edema. *Ann Int Med* 53: 739
97. Strauss JS, Pochi PE (1969) Recent advances in androgen metabolism and their relation to the skin. *Arch Dermatol* 100: 621-636
98. Sullivan TJ, Parker KL, Eisen SA, Perker CW (1975) Modulation of cyclic AMP in purified rat mast cells. II. Studies on the relationship between intracellular cyclic AMP concentration and histamine release. *J Immunol* 114: 1480-1485
99. Szentivani A (1968) The B-adrenergic theory of the atopic abnormality in asthma. *J Allergy* 42: 203-211
100. Urata C, Siraganian RP (1985) Pharmacologic modulation of the IgE of Ca^{2+} Ionophore A 23187 mediated Ca^{2+} influx, phospholipase activation, and histamine release in rat basophilic leukemia cells. *Int Archs Allergy appl Immunol* 78: 92-100
101. Venencie PY (1981) Histamine release in atopic dermatitis of childhood. In: *New trends of Allergy* (Ring J, Burg G, eds), Springer, Berlin, pp 224-230
102. Weiss B, Fertel K (1977) Pharmacological control of the synthesis and metabolism of cyclic nucleotides. *Adv Pharm Chemother* 14: 189-283

103. Wüthrich B (1980) Immunologische Befunde bei endogenem Ekzem. In: Dermatologie in Praxis und Klinik (Korting GW ed), Bd II, Thieme, Stuttgart, pp 1173-1186
104. Yamamoto S, Greaves MW, Fairley VM (1973) Cyclic AMP-induced inhibition of IgE-mediated hypersensitivity in human skin. Immunology 24: 77-83
105. Zucker-Franklin D, Greaves MF, Grossi CE, Marmont AM (1981) Atlas of blood cells. Edition Ermes S.R.L., Milano, pp 298-304

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. O. Braun-Falco danke ich für die Arbeitsmöglichkeit in der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der Universität.

Herrn Prof. Dr. Dr. J. Ring danke ich für die Überlassung des Dissertationsthemas und für seine immer wieder erfahrene Unterstützung.

Bei Herrn Dr. B. Przybilla bedanke ich mich für die Betreuung während des experimentellen Teiles der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. T. Krieg verdanke ich wertvolle Ratschläge zum Versuchsaufbau.

Meinem Mann, Dr. Gerd Grevers danke ich für die Bereitstellung der Rachenmandeln.

Für ihre Hilfestellung im Labor danke ich Frau E. Luxenburger und Frau F. Sedlmeir.

Lebenslauf

Ich wurde am 18. April 1957 als Tochter des Rechtsanwaltes Anton Colorian und seiner Ehefrau Elena in Bukarest geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Bukarest von 1964-1972 wechselte ich an das Englische Gymnasium in Bukarest. Im Jahre 1974 flüchteten meine Eltern und ich in die Bundesrepublik. Im selben Jahr konnte ich meine Schul- ausbildung am Rudolf-Koch-Gymnasium in Offenbach fort- setzen, wo ich 1977 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1977/78 nahm ich mein Medizinstudium in Regensburg auf und wechselte nach dem Physikum zum Wintersemester 1979/80 an das Klinikum rechts der Isar der TU München, um dort den klinischen Teil des Studiums zu absolvieren. Zum letzten Drittel meines Praktischen Jahres wechselte ich dann innerhalb Münchens an die Ludwig-Maximilians-Universität und legte dort im November 1983 den III. Teil des Medizinischen Staats- examens ab.

Am 30. November 1983 erhielt ich meine Approbation als Arzt.

Seit November 1983 bin ich mit Dr. med. Gerd Grevers verheiratet.

